

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра физиологии человека и животных

**ФОТОТЕРАПИЯ ВНУТРИЖЕЛУДОЧКОВЫХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ
У ВЗРОСЛЫХ МЫШЕЙ**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 421 группы
Направления 06.03.01 Биология
Биологического факультета
Карманова Сергея

Научный руководитель:

доцент, док. биол. наук _____ О. В. Семячкина-Глушковская
(подпись, дата)

Зав. кафедрой:

доцент, док. биол. наук _____ О. В. Семячкина-Глушковская
(подпись, дата)

Саратов 2023

ВВЕДЕНИЕ

Внутрижелудочковое кровоизлияние – это состояние, которое может возникать у недоношенных детей, при травме головы, сердечно–сосудистых заболеваниях, инфекции. В норме желудочки должны быть заполнены ликвором, который обеспечивает защитные и трофические функции, но при Внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) в них проникают форменные элементы крови которые, повышают внутричерепное давление, риск развития инфекционных заболеваний и, как следствие, различные психо–моторные осложнения. Также это может привести к гидроцефалии, повреждению головного мозга или смерти. ВЖК обычно диагностируется с помощью визуальных тестов, таких как компьютерная томография (КТ) или магнитно-резонансная томография (МРТ), и лечится хирургическим путем удаления сгустка крови.

Распространенность ВЖК зависит от возраста и причины кровотечения. Согласно некоторым исследованиям, у взрослых ВЖК составляет всего около 3% всех спонтанных внутричерепных кровоизлияний [1]. Чаще встречается в условиях внутримозгового или субарахноидального кровоизлияния [1]. У взрослых людей ВЖК в 30% случаев встречаются после травм головного мозга и в 70% случаев развиваются вторично после инсульта [2]. Развитие ВЖК для взрослых людей имеет плохие прогнозы и часто приводит к смерти [2]. Терапия ВЖК весьма ограничена и включают в себя хирургическое выведение крови из ликворной системы головного мозга и применение антикоагулянтов [3]. Поэтому развитие новых методов терапии ВЖК является актуальной задачей для медицины.

В 2015 году были открыты менингеальные лимфатические сосудов (МЛС), которые, как было установлено позже выполняют важную функцию выведения из центральной нервной системы метаболиты и токсины [4-7]. При этом в недавних исследованиях было показано, что функции МЛС можно стимулировать с помощью неинвазивного фотовоздействия в инфракрасном диапазоне [8-10]. На основании этих фактов мы предположили, что МЛС могут

также выводить продукты крови из головного мозга после развития ВЖК и что фотостимуляция МЛС будет способствовать улучшению этого процесса.

Целью данной работы является изучение лимфатического выведения продуктов крови из ткани головного мозга взрослых мышей и разработка технологии фототерапии внутрижелудочковых кровоизлияний.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить процесс лимфатического выведения эритроцитов из ликворной системы головного мозга мышей и человека с применением конфокальной микроскопии;

2. Исследовать эффективность выведения различных трейсеров (эритроцитов, золотых наночастиц, и красителя Evans Blue) из ликворной системы головного мозга мышей с помощью конфокальной микроскопии, оптической когерентной томографии, флуоресцентной микроскопии;

3. Провести анализ механизмов фотостимуляции лимфатического выведения эритроцитов из ликворной системы головного мозга мышей на основе изучения фотовоздействия на число менингеальных лимфатических сосудов, на изменения их диаметра, на продукцию оксида азота в лимфатическом эндотелии.

Материалы и методы исследования

Материалы исследования

Во всех экспериментах использовались самцы мышей BALB/c (20-25 г). Животные содержались в стандартных лабораторных условиях, с доступом к пище и воде *ad libitum*. Все процедуры проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства высшего и среднего образования СССР от 13.11.1984г. №742 и согласно протоколу исследований, не противоречащих Женевской Конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных»).

Группы животных

Эксперименты включали следующие группы:

- 1) исследование контрольных групп без ВЖК, n = 30;
- 2) исследование ложных групп взрослых мышей без ФС, n = 10;
- 3) исследование ложных групп взрослых мышей с ФС, n = 10;
- 4) исследование взрослых мышей с ВЖК без ФС, n = 10;
- 5) исследование взрослых мышей с ВЖК с ФС, n = 10.

- 1) исследование взрослых мышей в фиктивных группах, n = 6;
- 2) исследование взрослых мышей ВЖК, n = 6;
- 3) исследование взрослых мышей ВЖК+ФС, n = 6;
- 4) исследование взрослых мышей L-NAME+ВЖК, n = 6;
- 5) исследование взрослых мышей L-NAME+ВЖК+ФС, n = 6.

- 1) исследование взрослых мышей Визудин + ВЖК, =11;
- 2) исследование взрослых мышей Лазер + ВЖК, =11;
- 3) исследование взрослых мышей Визудин + Лазер + ВЖК, =9;
- 4) исследование взрослых мышей Визудин + Лазер +ВЖК+ ФС, =9.

Методы исследования

Фотостимуляцию применяли к теменной коре головного мозга в сагиттальном синусе. Использовался лазерный диод, излучающий с длиной волны 1267 нм. Общая продолжительность облучения и пауз составила 61 минуту, при этом за 17 минутами облучения следовала 5-минутная пауза. Мышам проводили фотостимуляцию в течение 7 дней каждый второй день под ингаляционной анестезией, начиная через 3 дня после моделирования ВЖК, с оценкой выживаемости и поведения в течение этого периода. Использовалась лазерная доза 60 Дж/см², при этом 15% лазерной энергии поступало в мозг через неповрежденный череп. Плотность мощности на поверхности мозга была рассчитана как равная 9 Дж/см². Нагрев ткани мозга, вызванный воздействием света, отслеживался с помощью регистратора данных термопары.

Для визуализации лимфатической системы и сосудистой сети мозговых оболочек использовали флуоресцентные маркеры. Антитела против Lyve-1 и против Prox-1 использовали для маркировки лимфатических сосудов, в то время как анти-CD-31 использовали для маркировки кровеносных сосудов. Для анализа ГШЛУ лимфатические узлы были удалены и зафиксированы перед разрезанием для дальнейшего анализа. Для мечения специфических структур были проведены различные стадии промывки и инкубации с флуоресцентными красителями и антителами. Иммуногистохимический анализ позволил визуализировать и исследовать лимфатические сосуды и ГШЛУ.

Мозговые оболочки мыши и срезы ГШЛУ (предположительно специфическая структура) визуализировали с помощью конфокального микроскопа (LSM 710, Zeiss, Йена, Германия). Различные флуоресцентные маркеры, такие как Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 561 и Alexa Fluor 647, возбуждались на определенных длинах волн для визуализации определенных структур. Данные трехмерной визуализации были собраны с использованием изображений в плоскостях x, y и z. Полученные изображения были проанализированы с помощью программного обеспечения Imaris (Bitplane). Программа Matlab использовалась для измерения диаметра лимфатических

сосудов. Процесс включал в себя несколько этапов, включая установление порогового значения изображения, закрытие изображения, морфологические операции и определение кривой профиля.

Для измерения сократимости лимфатических сосудов использовался микроскоп Axio Imager A1 с проходящим светом. Для захвата последовательностей изображений использовались монохромная CMOS-камера и видеоформат AVI. LabVIEW и IMAQ Edge Tool 3 VI использовались для обработки видеоряда, определения краев сосудов и измерения диаметров сосудов. Затем результирующий ряд измеренных расстояний был отфильтрован с помощью 4-точечного медианного фильтра, чтобы исключить всплески, вызванные ошибками обнаружения, связанными со случайными движениями сосудов.

Анастезируемым мышам вводили золотые наностержни и Evans Blue в правый боковой желудочек. Визуализацию лимфатических узлов и последующие измерения проводили с использованием стереофлуоресцентного микроскопа и программного обеспечения FUJI. ОКТ-визуализация с помощью ОКТ-системы Thorlabs GANYMEDE использовалась для визуализации динамического накопления лимфатической жидкости в полостях. Атомно-абсорбционная спектроскопия была использована для оценки содержания золотых наностержней в ткани головного мозга и ГШЛУ.

Для абляции менингеальных лимфатических сосудов использовали введение визудина в сочетании с лазерным облучением (длина волны 689 нм). Различные группы мышей подвергали специфическому лечению, включая инъекции физиологического раствора или визудина и лазерное облучение. Через определенный период кровь была введена в правый боковой желудочек с последующим удалением мозговых оболочек для конфокальной микроскопии.

Выделение лимфатических эндотелиальных клеток (ЛЭК) включало забор брыжеечной лимфатической ткани у интактных мышей. Ткань разрезали на мелкие фрагменты и инкубировали с раствором коллагеназы А для диссоциации клеток. Затем клеточную суспензию пропускали через

нейлоновую сетку и центрифугировали для получения клеточного осадка. ЛЭК выделяли с использованием антител, специфичных к подопланину, маркеру для ЛЭК, с последующим вторичным мечением антителами. Выделенные клетки культивировали в среде, дополненной фетальной телячьей сывороткой, пенициллином и стрептомицином.

Для измерения количества оксида азота (NO), вырабатываемого ЛЭК, уровень нитритов/нитратов (NOx) определяли с помощью анализатора NO. Этот анализ включал сравнение концентрации NOx в образцах клеток с внешними стандартами. Накопление NOx количественно оценивали и нормализовали к концентрации белка, определенной с помощью анализа белка бицинхониновой кислоты.

Поведенческие тесты были проведены на мышах для оценки неврологического дефицита. Эти тесты включали оценку лазания, плавания, времени передвижения и распознавания. Каждый тест оценивался, и баллы суммировались для определения общего балла дефицита.

Тест на распознавание объектов был использован для оценки памяти у мышей. Мышам были представлены два идентичных объекта во время вводного сеанса, а затем один объект был заменен новым объектом во время тестового сеанса. Время, затраченное на изучение каждого объекта, было записано [11].

Двигательные нарушения, включая равновесие и силу хватания, оценивались с помощью теста "подвешивание на сетке". Мышей помещали на перевернутую сетку и измеряли время до их падения. Кроме того, был проведен тест на подвешивание хвоста для оценки подвижности и неподвижности мышей, подвешенных за хвосты.

Тест на плавание включал в себя помещение мышей по отдельности в воду, и их плавательное поведение регистрировалось. Было рассчитано время неподвижности, когда мышь оставалась неподвижной на плаву [12].

Статистический анализ проводился с использованием различных тестов, включая критерий Уилкоксона, критерий Манна-Уитни и дисперсионный

анализ (ANOVA). Уровень значимости был установлен на уровне $p < 0,05$ для всех анализов. Непараметрические тесты использовались, когда распределение параметров отклонялось от нормального, в то время как параметрические тесты использовались, когда распределение соответствовало нормальному распределению.

Таким образом, основная методология включала выделение лимфатических эндотелиальных клеток у мышей, измерение количества оксида азота, вырабатываемого этими клетками, и проведение поведенческих тестов для оценки неврологического дефицита. Был проведен статистический анализ для определения существенных различий между группами.

Результаты

Выведение эритроцитов по лимфатическим сосудам из мозга взрослых мышей

Исследовали присутствие эритроцитов в лимфатической системе мозга и изучили влияние ФС на лимфодренаж. Проанализировали наличие эритроцитов в лимфатической системе ГШЛУ и менингеальной лимфатической системе (МЛС) мышей с контролем объема желудочков ВЖК по сравнению с интактными мышами. Лимфатические сосуды были помечены маркерами Lyve-1 и Prox-1, а кровеносные сосуды маркером CD31. Анализ показал наличие эритроцитов внутри лимфатических сосудов и ГШЛУ у мышей с ВЖК, в то время как у интактных мышей эритроцитов не было [13].

Основываясь на этом наблюдении было предположено, что эритроциты могут эвакуироваться в субарахноидальное пространство и стекать в МЛС, который затем приводит к ГШЛУ. Было проанализировано присутствие эритроцитов в МЛС с помощью окрашивания и обнаружили, что эритроциты наблюдались в МЛС мышей с ВЖК, но не у интактных мышей. Также проанализировали мозговые оболочки человека и обнаружили эритроциты в МЛС после ВЖК.

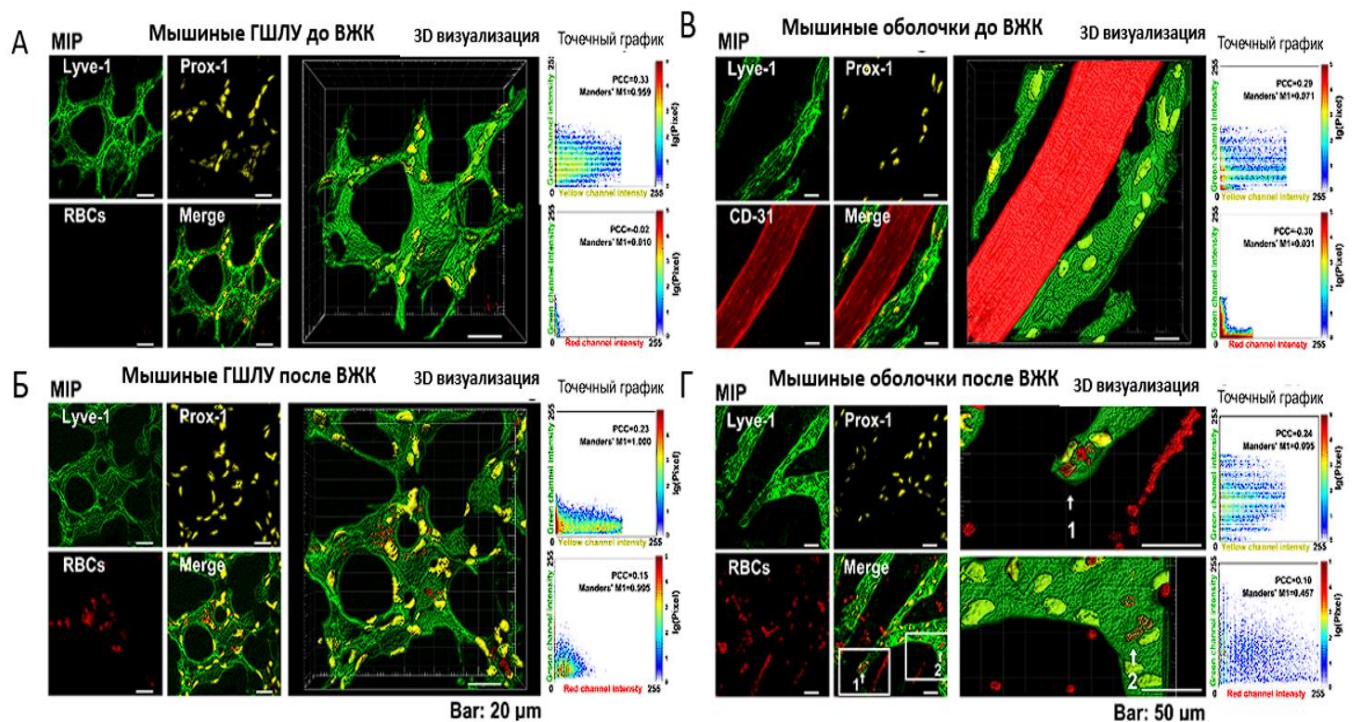


Рисунок 1 – Лимфатическое выведение эритроцитов из мозга мышцы в ГШЛУ. (А) и (Б) Репрезентативные конфокальные изображения лимфатических сосудов и ГШЛУ, окрашенных для Lyve-1 (зеленый цвет), Prox-1 (желтый цвет) и эритроцитов (красный цвет, аутофлуоресценция) без (А) и после ВЖК (Б). На 3D-визуализации показаны лимфатические сосуды и ГШЛУ без эритроцитов у интактных мышей (А) и с эритроцитами у мышей с ВЖК (Б). МПР – Проекция максимальной интенсивности. PCC – коэффициент корреляции Пирсона. PCC находится в диапазоне от 1 до -1. 1 представляет идеальную корреляцию, -1 представляет полностью отрицательную корреляцию, а 0 представляет собой случайную взаимосвязь. M1 Мандерса – Доля областей красной/желтой флуоресценции, совмещенных с зеленой флуоресценцией. Графики рассеяния показывают, что распределение Prox-1 положительно коррелирует с Lyve-1, и почти все Prox-1 совпадают с Lyve-1. Кроме того, красные сигналы, которые представляют эритроциты, отрицательно коррелируют с распределением Lyve-1 без ВЖК, что свидетельствует об отсутствии эритроцитов внутри лимфатических сосудов и ГШЛУ у интактных мышей. (В и Г) Репрезентативные конфокальные изображения МЛС, окрашенных на Lyve-1 (зеленый цвет) и Prox-1 (желтый цвет), кровеносных

сосудов, окрашенных CD31 (красный, цвет) и эритроцитов (красный цвет, аутофлуоресценция) у интактных мышей (В) и у мышей с ВЖК (Г). Изображения трехмерной визуализации иллюстрируют МЛС у интактных мышей вверху на (В) и МЛС, заполненные эритроцитами (красный цвет, аутофлуоресценция) у мышей с ВЖК внизу на (Г). В (Г) изображения 3D–визуализации представляют собой увеличенный вид областей кадра в (1) и (2), которые ясно показывают, что эритроциты (красный цвет) вокруг МЛС (1) или внутри МЛС (2)

Фотостимуляция лимфатического дренажа эритроцитов и макромолекул из мозга мышей

Применяли лазерное излучение в различных дозах и измеряли изменения температуры черепа и коры головного мозга. Результаты показали, что лазерные дозы 3-27 Дж/см² не вызывали значительного повышения температуры ткани мозга. Гистологический анализ также не выявил никаких изменений в тканях головного мозга после фотостимуляции.

Исследователи дополнительно изучили влияние фотостимуляции на лимфатический клиренс, изучив накопление веществ в ГШЛУ. Они обнаружили, что доза фотостимуляции в 9 Дж/см² значительно увеличивала накопление веществ в ГШЛУ по сравнению с контрольными группами. Для количественного анализа они использовали оптическую когерентную томографию (ОКТ) и атомно-абсорбционную спектроскопию.

Визуализировав выведение красителя Evans Blue из правого желудочка и обнаружено, что интенсивность флуоресценции в ГШЛУ увеличилась после фотостимуляции дозой 9 Дж/см². Был сделан вывод, что эта доза была эффективной для стимуляции лимфатического клиренса.

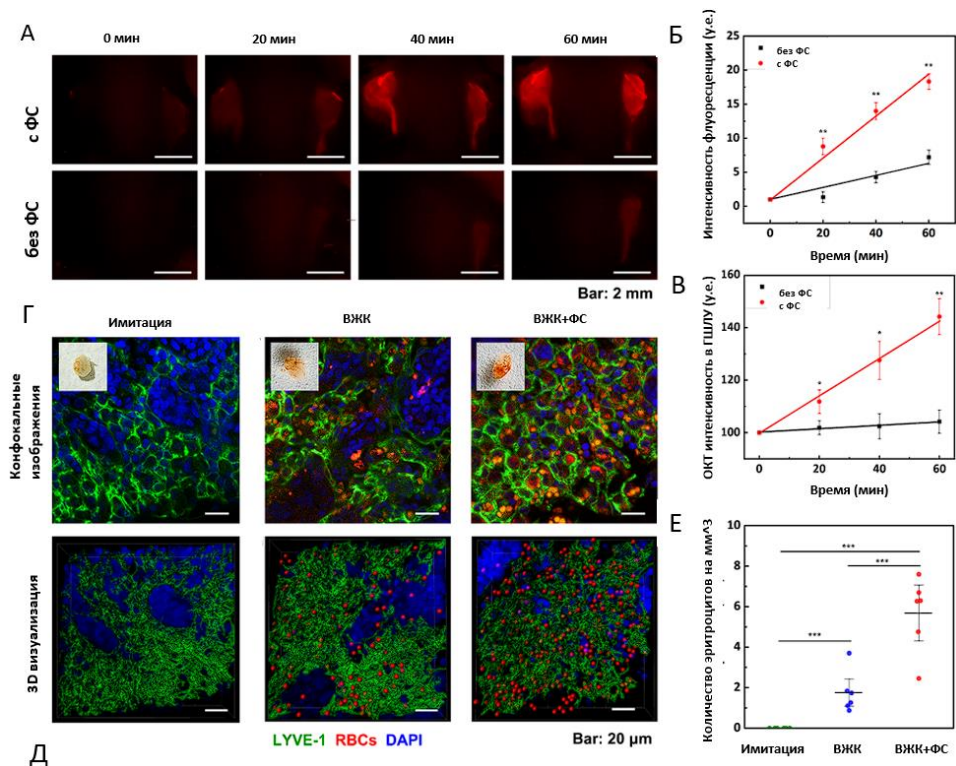


Рисунок 2 - Стимуляция ФС 9 Дж/см² лимфатического выведения эритроцитов и макромолекул из мозга мыши: (А) Репрезентативные флуоресцентные изображения клиренса Evans Blue из правого бокового желудочка в ГШЛУ с ФС и без ФС у здоровых мышей; (Б) Количественный анализ интенсивности флуоресценции накопления Evans Blue в ГШЛУ у здоровых мышей. мыши с ФС и без него. ** - $p < 0,01$, $n = 10$ в каждой группе, тест Уилкоксона; (В) данные ОКТ о накоплении ЗНС в ГШЛУ после его внутривентрикулярной инъекции с ФС и без него у здоровых мышей, * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$, $n = 10$ в каждой группе, тест Уилкоксона; (Г-Е) Репрезентативные конфокальные изображения ГШЛУ через 1 час после введения физиологического раствора (Г), крови без ФС (Д) и крови+ФС (Е) в правый задний желудочек. Вставки в (Г-Е) представляют фотографии ГШЛУ; (Ё-З) 3D-визуализация ГШЛУ через 1 час после введения физиологического раствора (Ё), крови без ФС (Ж) и крови +ФС (З) в правый боковой желудочек (объем ГШЛУ составил $135 \times 135 \times 40$ мкм³); (И) количество эритроцитов в ГШЛУ через 1 час после введения крови в правый задний желудочек с ФС и без ФС, *** - $p < 0,001$, $n = 6$ в каждой группе, тест LSD. Лимфатические сосуды были

помечены Lyve-1 (зеленый цвет) и Prox-1 (желтый цвет), эритроциты были визуализированы по их автофлуоресценции (красный цвет)

Механизмы действия фотостимуляции на лимфатические сосуды

Фотостимуляция расширила базальные МЛС и было предположено, что это может быть связано со стимуляцией выработки оксида азота (NO), который модулирует сократительную способность лимфатических сосудов и лимфоток [14-16]. Чтобы это проверить, у мышей заблокировали NO-синтазу с помощью вещества L-NAME.

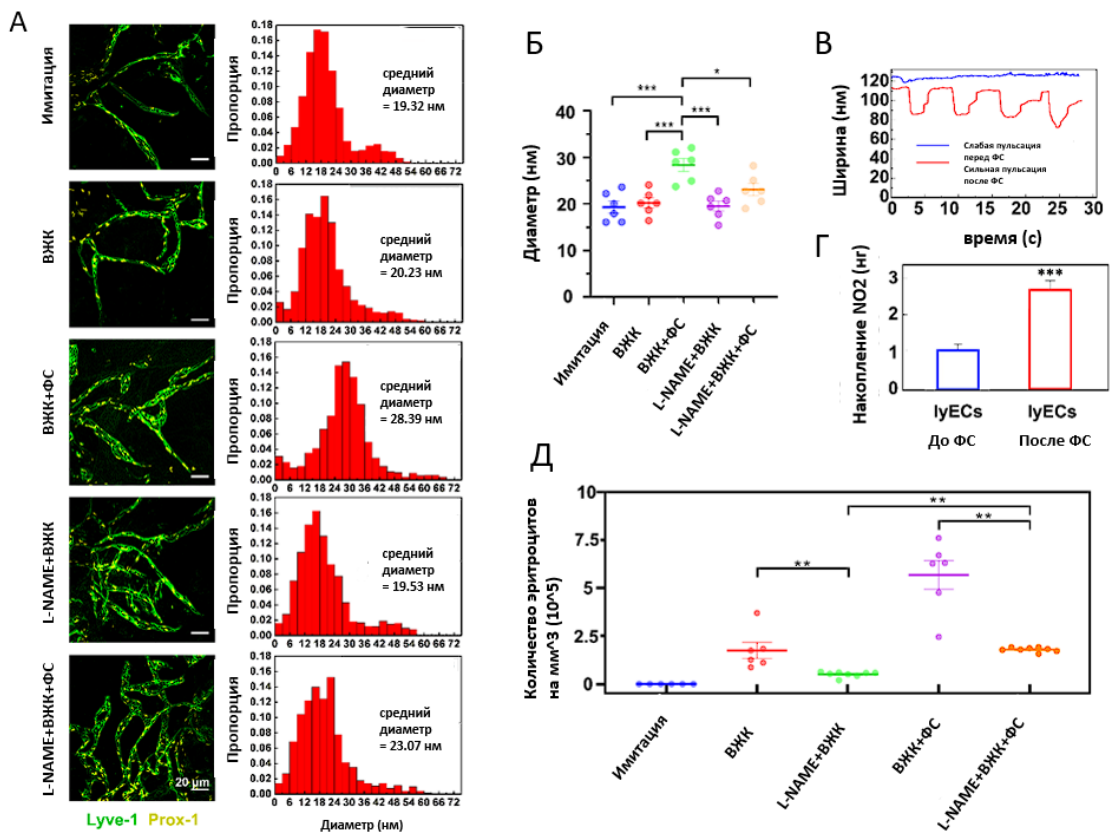


Рисунок 3 – Механизмы воздействия ФС на лимфатические сосуды: (А) Репрезентативные флуоресцентные изображения базальных МЛС (помеченных Lyve-1, зеленым и Prox-1, желтым) в фиктивных группах, ВЖК, ВЖК+ФС, L-NAME+ВЖК и L-NAME+ВЖК+ФС, n=6 в каждой группе; (Б) количественный анализ диаметра МЛС в фиктивных группах, ВЖК, ВЖК+ФС, L-NAME+ВЖК и L-NAME+ВЖК+ФС, n=6 в каждой группе, *p<0,05 и *** p<0,001, тест Тьюки; (В) ОКТ-анализ сократимости брыжеечного лимфангиона in vivo до и после ФС, n=3; (Г) выработка NO (определяемая как NO₂) в среде первичных ЛЭК

*** $p < 0,001$ по сравнению с ЛЭК без ФС; (Д) количественный анализ количества эритроцитов в ГШЛУ в фиктивных, ВЖК, ВЖК+ФС, L-NAME+ВЖК и группы L-NAME+ВЖК+ФС, $n=6$ в каждой группе, $p < 0,01$ между группами, LSD-тест

Для поиска независимого от лимфатической системы путей выведения эритроцитов из головного мозга, было исследовано влияние фотодинамических нарушений МЛС на накопление эритроцитов в ГШЛУ.

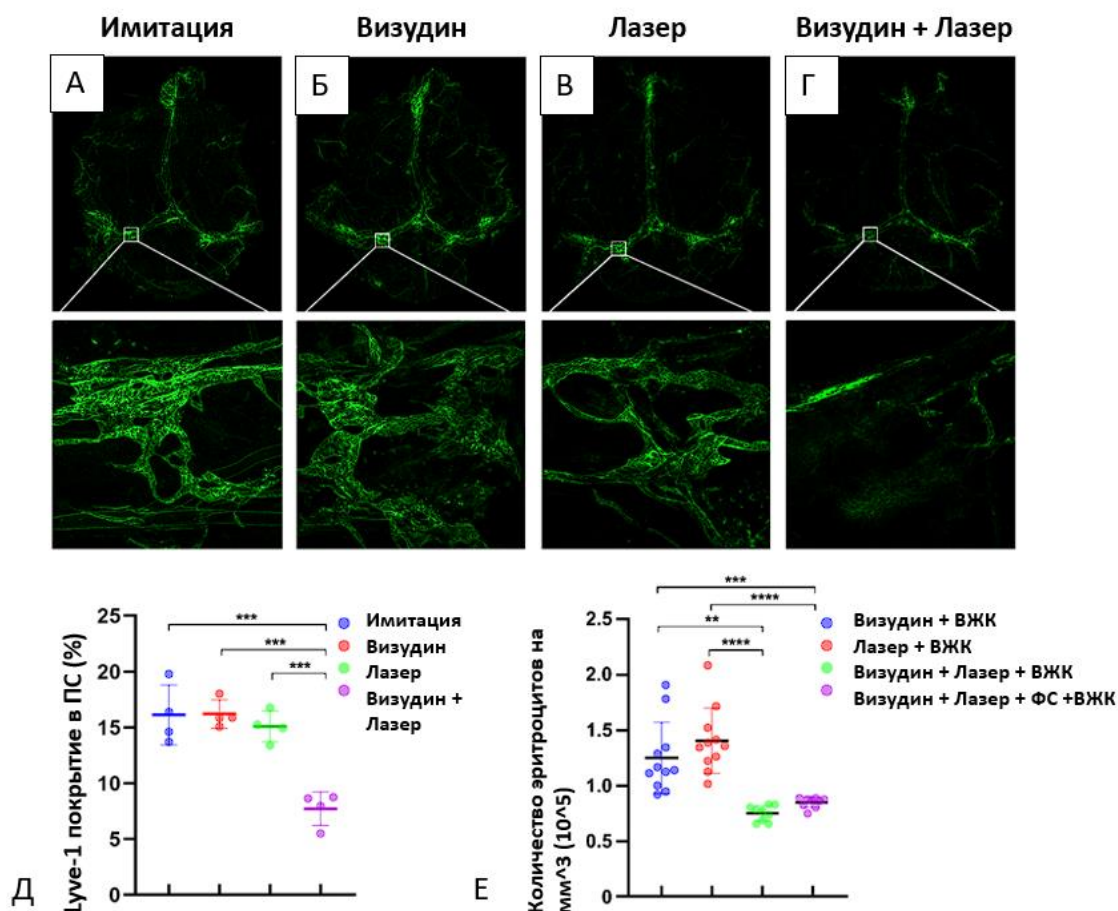


Рисунок 4 – Влияние абляции МЛС на лимфатическое удаление эритроцитов из мозга мыши: (А–Г) Репрезентативные конфокальные изображения МЛС, помеченных Lyve–1 (зеленый), окружающих поперечный синус в контрольной группе (А – без абляции МЛС), в группе Визудин (Б), в группе Лазер (В) и после разрушения МЛС в группе Визудин+Лазер (Г), $n=4$ в каждой группе; (Д) Количественный анализ МЛС, покрывающих поперечный синус, в контрольных группах, Лазер, Визудин и Визудин + Лазер + ФС, $n=4$ в

каждой группе, критерий Тьюки; (Е) Количественный анализ количества эритроцитов в ГШЛУ в группах Лазер + ВЖК, Визудин + ВЖК, в группах Визудин + Лазер + ВЖК и в группах Визудин + Лазер + ВЖК + ФС, n = 11 в группах Визудин + ВЖК и группы Лазер + ВЖК, n=9 в группах Визудин + Лазер + ВЖК и Визудин + Лазер + ВЖК + ФС, критерий Тьюки

Терапевтическое влияние курса фотостимуляции на восстановление взрослых мышей после внутрижелудочкового кровоизлияния

В исследовании оценивались различные параметры, такие как смертность, морфология мозга, поведение, размер гематомы, удаление эритроцитов, вазогенный отек, расширение желудочков, внутричерепное давление и неврологический дефицит.

Результаты показали, что уровень смертности среди взрослых мышей с ВЖК был низким, только 2 из 20 мышей умерли в группе ВЖК и ни одной смерти в группе ВЖК + ФС. Однако у мышей в группе ВЖК наблюдались значительные изменения в морфологии мозга и поведении, связанные с ВЖК, которые улучшились после курса ФС.

Размер перивентрикулярной гематомы, образовавшейся в результате ВЖК, был значительно уменьшен через 11 дней в группе ВЖК+ФС по сравнению с группой ВЖК без ФС. Курс ФС также привел к более быстрому удалению красных кровяных телец из головного мозга.

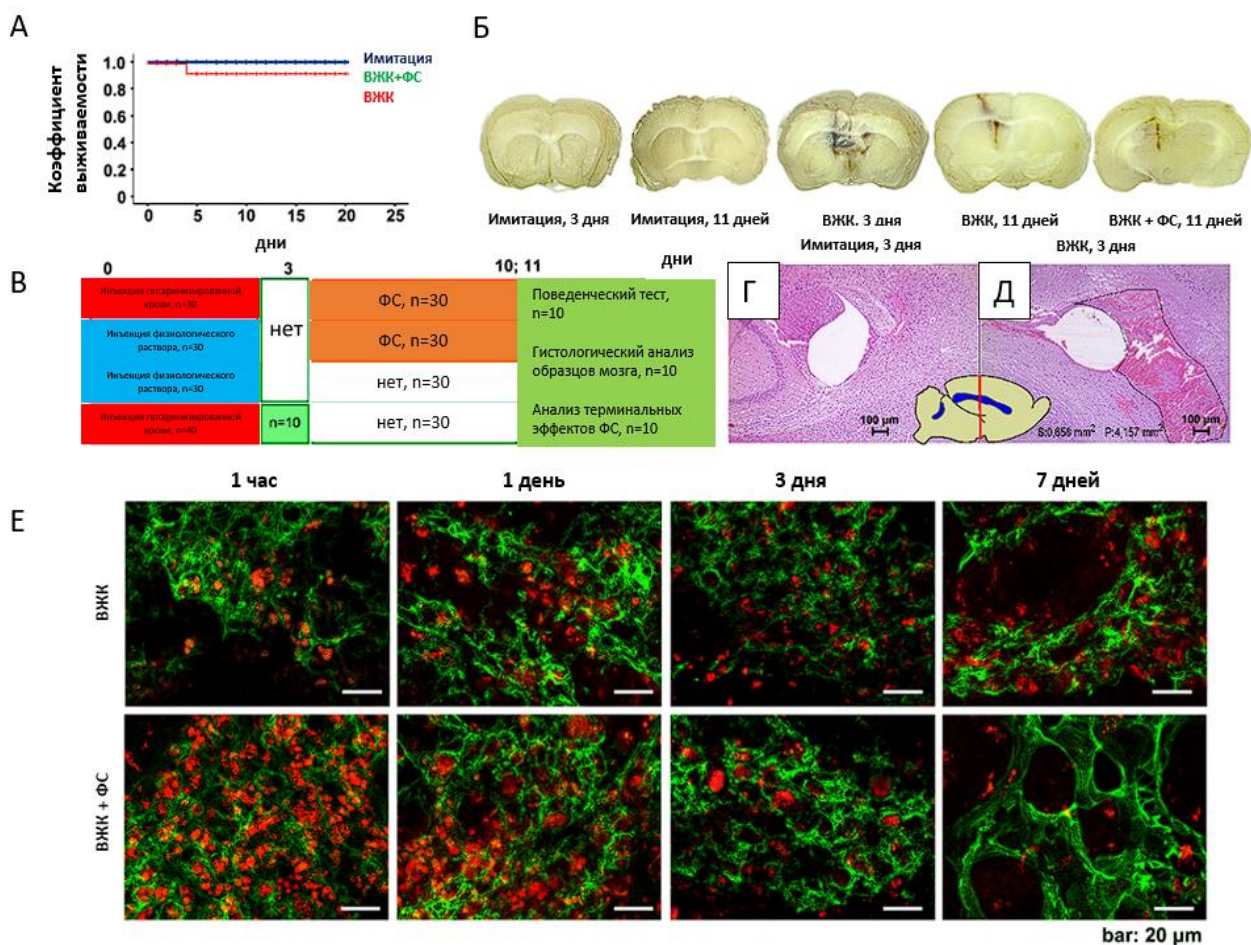


Рисунок 5 – Терапевтические эффекты курса ФС-9 Дж/см² у взрослых мышей с ВЖК: (А) графики общей выживаемости Каплана-Мейера в тестируемых группах с курсом ФС и без него; число выживших мышей к 21 дню наблюдения было значительно выше в группе ВЖК+ФС, чем в контрольной группе. Группа ВЖК (n=30 в каждой группе, p=0,009, логарифмический рейтинг теста X² (Мантел-Кокс) = 9,391); (Б) – репрезентативные 2D-изображения нормального мозга через 3 и 11 дней после ВЖК с курсом ФС и без него, n=10 в каждой группе; (В) Принципиальная схема временных точек экспериментов и количества животных в экспериментальных группах; (Г, Д) – Гистологическая визуализация нормальных тканей головного мозга вокруг правого левого желудочка и перивентрикулярной гематомы, образовавшейся через 3 дня после внутривенного введения, n=10 в каждой группе; (Е) репрезентативные

конфокальные изображения присутствия эритроцитов в ГШЛУ мышей без курса ФС и после него, n=6 в каждой группе

Кроме того, ФС эффективно уменьшал вазогенный отек, наблюдаемый у мышей после внутрижелудочкового кровоизлияния. Размер периваскулярного пространства (ПВС) увеличился после ВЖК, но уменьшился к 11-му дню выздоровления, причем уменьшение было более выраженным в группе ВЖК + ФС по сравнению с группой ВЖК без ФС.

Кроме того, курс ФС способствовал более быстрому восстановлению расширенных желудочков после ВЖК. Размер желудочков значительно уменьшился в группе ВЖК+ФС по сравнению с группой ВЖК без ФС.

В исследовании также оценивалось внутричерепное давление (ВЧД) и было обнаружено, что ФС значительно сокращала время восстановления ВЧД после ВЖК. Неврологический дефицит, наблюдаемый у мышей с ВЖК, включая изменения в двигательных функциях и памяти, значительно улучшился после курса ФС.

Таким образом, исследование продемонстрировало терапевтический эффект фотостимуляции на восстановление взрослых мышей после внутрижелудочкового кровоизлияния. ФС улучшал различные исходы, включая смертность, морфологию головного мозга, размер гематомы, удаление эритроцитов, вазогенный отек, расширение желудочков, внутричерепное давление и неврологический дефицит.

ВЫВОДЫ

1. Менингеальные лимфатические сосуды выполняют важную функцию выведения продуктов крови из ликворной системы головного мозга взрослых мышей в периферическую лимфатическую систему;
2. Фотостимуляция в инфракрасном диапазоне существенно повышает лимфовыводящую функцию головного мозга мышей, что способствует лучшему выведению продуктов крови из центральной нервной системы у мышей с ВЖК по сравнению с группами животных с ВЖК, не получающими фототерапию;
3. Фототерапевтические эффекты на функции МЛС реализуются за счет повышения продукции NO в лимфатическом эндотелии, что способствует усилению лимфодренажа тканей головного мозга;
4. Фотостимулирующие эффекты на лимфатическое выведение крови из ликворной системы мышей сопровождается улучшением восстановления неврологического статуса животных и повышает их выживаемость.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Intraventricular hemorrhage growth: definition, prevalence and association with hematoma expansion and prognosis / Q. Li [et al.] // *Neurocritical Care*. – 2020. – V. 33. – P. 732-739.
2. Hinson, H. E. Management of intraventricular hemorrhage / H. E. Hinson, D. F. Hanley, W. C. Ziai // *Current neurology and neuroscience reports*. – 2010. – V. 10. – P. 73-82.
3. Dastur, C. K. Current management of spontaneous intracerebral haemorrhage / C. K. Dastur, W. Yu // *Stroke and vascular neurology*. – 2017. – V. 2. – N 1. – P. 28-29.
4. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels / A. Louveau [et al.] // *Nature*. – 2015. – V. 523. – P. 337-341.
5. Functional investigation of meningeal lymphatic system in experimental intracerebral hemorrhage / H. H. Tsai [et al.] // *Stroke*. – 2022. – V. 53. – N 3. – P. 987-998.
6. Subdural haematomas drain into the extracranial lymphatic system through the meningeal lymphatic vessels / X. Liu [et al.] // *Acta Neuropathologica Communications*. – 2020. – V. 8. – P. 1-11.
7. Meningeal lymphatics clear erythrocytes that arise from subarachnoid hemorrhage / J. Chen, [et al.] // *Nature communications*. – 2020. – V. 11. – N 1. – P. 3159.
8. Photobiomodulation of lymphatic drainage and clearance: perspective strategy for augmentation of meningeal lymphatic functions / O. Semyachkina-Glushkovskaya [et al.] // *Biomed Opt Express*. – 2020. – V. 11. – P. 725-734.
9. Photostimulation of cerebral and peripheral lymphatic functions / O. Semyachkina-Glushkovskaya [et al.] // *Translational Biophotonics*. – 2020. – V. 2. – P. 1-11.
10. Photomodulation of lymphatic delivery of liposomes to the brain bypassing the blood-brain barrier: new perspectives for glioma therapy / O. Semyachkina-Glushkovskaya [et al.] // *Nanophotonics*. – 2021. – V. 10. – P. 3215-3227.

11. The mouse forced swim test / Can A. et al. // *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. – 2012. – N59. – P. 3638.
12. Simmonds, W. J. The absorption of blood from the cerebrospinal fluid in animals / W. J. Simmonds // *Aust J Exp Biol Med Sci*. – 1952. – V. 30. – P. 261-270
13. Lymphatic efflux of intracerebrally injected cells / M. Oehmichen [et al.] // *Acta Neuropathol*. – 1979. – V. 45. – P. 61-65.
14. Karu, T. I. Cellular effects of low power laser therapy can be mediated by nitric oxide / T.I. Karu, L. V. Pyatibrat, N. I Afanasyeva // *Lasers Surg Med*. – 2005. – V. 36. – P. 307-314.
15. Shirasawa, Y. Physiological roles of endogenous nitric oxide in lymphatic pump activity of rat mesentery in vivo / Y. Shirasawa, F. Ikomi, T. Ohhashi // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. – 2000. – V. 278. – P. 551-556.
16. Weid, P-Yvd. Nitric oxide decreases pacemaker activity in lymphatic vessels of guinea pig mesentery / P-Yvd. Weid, J. Zhao, D. F. V. Helden // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2001. – V. 280. – P. 2707-2716.